



ヘムタンパク質の新規触媒活性の発見と機能解析

著者	永久保 利紀
発行年	2018
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2017
報告番号	12102甲第8605号
URL	http://hdl.handle.net/2241/00152681

氏名	永久保 利紀		
学位の種類	博 士 (農 学)		
学位記番号	博 甲 第 8 6 0 5 号		
学位授与年月日	平成 3 0 年 3 月 2 3 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	ヘムタンパク質の新規触媒活性の発見と機能解析		
主査	筑波大学教授	農学博士	小林 達彦
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	中村 顕
副査	筑波大学准教授	博士 (農学)	臼井 健郎
副査	筑波大学准教授	博士 (工学)	橋本 義輝

論 文 の 要 旨

ヒトが植物から摂取したフラボノイドは、小腸や肝臓で *O*-メチル化やグルクロン酸抱合、硫酸抱合などの代謝を受けることで生理活性を示すことが知られているが、フラボノイド代謝産物自体が独自の生理活性を発揮する例も報告されている。そこで著者は、フラボノイドの有用な生理活性を理解する上で必要不可欠である体内でのフラボノイド代謝に関する研究を行った。本論文では、幅広い食用植物に含まれ、抗うつ作用や記憶増強作用などの生理活性を示すが、その代謝が未知の 7,8-ジヒドロキシフラボン (7,8-DHF) を基質として選択し、主として以下のことを明らかにしている。

ブタ肝臓無細胞抽出液を 7,8-DHF に作用させた場合、反応産物の生成が認められなかったことから、種々の補酵素を反応系に添加した結果、CoA を添加することで反応産物の検出に成功した。無細胞抽出液より代謝酵素を精製したところ、本酵素はヘモグロビンであることを解明した。また、ブタおよびヒト血液由来ヘモグロビンも、同様の 7,8-DHF 変換活性をもつことを明らかにした。続いて、反応産物は、7,8-DHF の A 環の 6 位にパンテテインが末端のチオール基を介して結合した構造の新規化合物であると同定した。以上の結果より、ヘモグロビンは、①CoA をパンテテインと 3',5'-ジホスホ ADP に分解し、②パンテテインと 7,8-DHF を結合する、2 段階の反応を触媒することが示唆された。また生化学的解析の結果、①はヘモグロビンのヘム以外の部位で起こる反応で、②はヘムが関与する反応であることを解明した。一方、ペルオキシダーゼやカタラーゼといったヘム酵素は、②の活性のみを有していたことから、①の活性はヘモグロビンに特有のものであること、また、②の活性は、パンテテインの代わりにグルタチオンやシステインを基質として各々用いた場合も検出されることを明らかにした。さらに、ヘモグロビンの基質特異性を調べたところ、ヘモグロビンは、7,8-DHF だけでなく、タキシフォリンや、我々が日常的に摂取しているケルセチンやカテキン、エピカテキン、アピゲニン等のフラボノイドに対しても、同様の活性を示すことを明らかにした。

審 査 の 要 旨

がんや心疾患などの慢性疾患の増加は、世界規模の健康問題である。疫学的な調査結果は、これらの慢性疾患に対するフラボノイドの予防効果を裏付けており、その効果がフラボノイドの抗酸化作用や種々の酵素に対する阻害作用に起因することも明らかにされてきている。ヒトが植物から摂取したフラボノイドは、小腸や肝臓で抱合化を受け代謝され、一般に、これらの代謝産物が血流に乗って組織まで運ばれ、そこで再び脱抱合反応を受けて元のフラボノイド（アグリコン）に戻り、そのアグリコンが生理活性を発揮していると考えられている。しかしながら、アグリコンだけでなく、フラボノイド代謝産物自体が、独自の生理活性を発揮する例も数多く報告されているが、フラボノイド代謝に関する研究は限られているのが現状である。そこで、ヒトにおけるフラボノイド代謝経路に関する新しい知見を得るため、新規フラボノイド代謝産物と、その合成に関わる代謝酵素の発見を目的として研究が行われた。

本研究によって、ヘモグロビンが、①CoA をパンテテインと 3',5'-ジホスホ ADP に分解し、②パンテテインと 7,8-DHF を結合する、2 段階の反応を触媒する機能を有することが初めて明らかとなった。また、②の活性は、パンテテインの代わりにグルタチオンやシステインを基質として各々用いた場合も検出されること、さらに、7,8-DHF だけでなく、種々のフラボノイドも基質となることが明らかとなった。これら一連の研究は、生命科学研究にインパクトを与えるのみならず、生体触媒反応によって有用物質を生産する上で重要な成果である。また、人類の歴史上最も詳細に研究されたタンパク質とされるヘモグロビンにこのような新たな機能が見出されたことは、将来、ヘモグロビンに関連する幅広い分野での新発見につながることを期待される。以上のように、本研究の成果は、生物機能科学領域および応用酵素学領域において大きく貢献するものと判定される。

平成 30 年 1 月 11 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。